

# INFLUÊNCIA DO OZONO NO PROCESSO DE COLONIZAÇÃO BACTERIANA EM TITÂNIO

95



CARLOS PINTADO<sup>1</sup>; Paula Vaz<sup>2</sup>; Manuela Pintado<sup>3</sup>; Eduardo Costa<sup>4</sup>; Luís A. Rocha<sup>5</sup>; António Felino<sup>6</sup>

1. Médico Dentista; Estudante do VI Curso de Mestrado em Cirurgia Oral da FMDUP; [cpintado@fmd.up.pt](mailto:cpintado@fmd.up.pt)
2. Médica Dentista; Professora Auxiliar de Genética Médica e Orofacial da FMDUP; [pvaz@fmd.up.pt](mailto:pvaz@fmd.up.pt)
3. Professora Auxiliar da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa; [mpintado@porto.ucp.pt](mailto:mpintado@porto.ucp.pt)
4. Mestre em Microbiologia; Investigador da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa; [emcosta@porto.ucp.pt](mailto:emcosta@porto.ucp.pt)
5. Professor, UNESP - Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Ciências de Bauru, SP-Brasil, [irocha@fc.unesp.br](mailto:irocha@fc.unesp.br) e Investigador, CT2M - Center for Mechanical and Materials Technologies, Universidade do Minho, [irocha@dem.uminho.pt](mailto:irocha@dem.uminho.pt)
6. Médico Dentista; Professor Catedrático de Cirurgia Oral da FMDUP; [afelino@fmd.up.pt](mailto:afelino@fmd.up.pt)

## OBJETIVO

Com o incremento da utilização de implantes dentários em reabilitação oral, a ocorrência de complicações biológicas sofreu um aumento, tais como a peri-mucosite e a peri-implantite (1). Se inicialmente a literatura se focava na perda do implante dentário, atualmente centra-se na procura de informação que sustente a compreensão dos fenómenos de base e da sua resolução, sobretudo, da peri-implantite (1-3). Recentemente foram colocados no mercado equipamentos para utilização de Ozono em medicina dentária, cuja funcionalidade se baseia na potencial ação bacteriostática do Ozono mas da qual a evidência científica sobre os seus efeitos e aplicabilidade, em particular em implantologia oral, ainda é escassa (4). Deste modo, este estudo pretendeu avaliar a eficácia antimicrobiana do Ozono em culturas de *Staphylococcus aureus* sobre discos de Titânio.

## MATERIAIS E MÉTODOS

- O efeito do Ozono na formação de biofilme bacteriano pelo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) foi testado através do uso de microplacas de 24 poços e de 8 discos de Titânio, com 1 cm<sup>2</sup> de área e com uma superfície tratada quimicamente por aplicação de um ataque ácido (ácido fluorídrico+ácido nítrico+água na proporção 1:1:1) no CT2M - Centre for Mechanical and Materials Technologies, Universidade do Minho (Figura 1).
- Cada disco foi revestido com um volume de inóculo correspondente a 1x10<sup>8</sup> ufc/ml e seco durante 30 min em condições assépticas. Cada disco inoculado foi tratado com jato de Ozono, durante 40 segundos, usando o equipamento HealOzone® (KaVo Dental GmbH, Biberach, Germany) (Figura 2). Após esta aplicação do Ozono, os discos foram submersos em poços com 2 ml de 1% Tryptic Soy Broth (Difco®) e glucose a 1% (Sigma-Aldrich®). Simultaneamente, foi realizado um controlo positivo e um controlo negativo (Figura 3). Após 48 h, os discos foram recuperados e o número de unidades formadoras de colónias (UFC) foi determinado através do método Miles & Misra (5) em Plate Count Agar (Merck®). As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h.
- Os dados foram tratados, recorrendo ao software estatístico Graphpad PRISM, versão 4.0 (GNU, General Public License). Os resultados relativos à avaliação de inibição de crescimento bacteriano foram obtidos aplicando a seguinte fórmula: % inibição de crescimento bacteriano = 100-(Log UFC<sub>Amostra com Ozono</sub>/Log UFC<sub>Amostra sem Ozono</sub>)x100.



Figura 1 - Preparação dos discos de Titânio (CT2M)

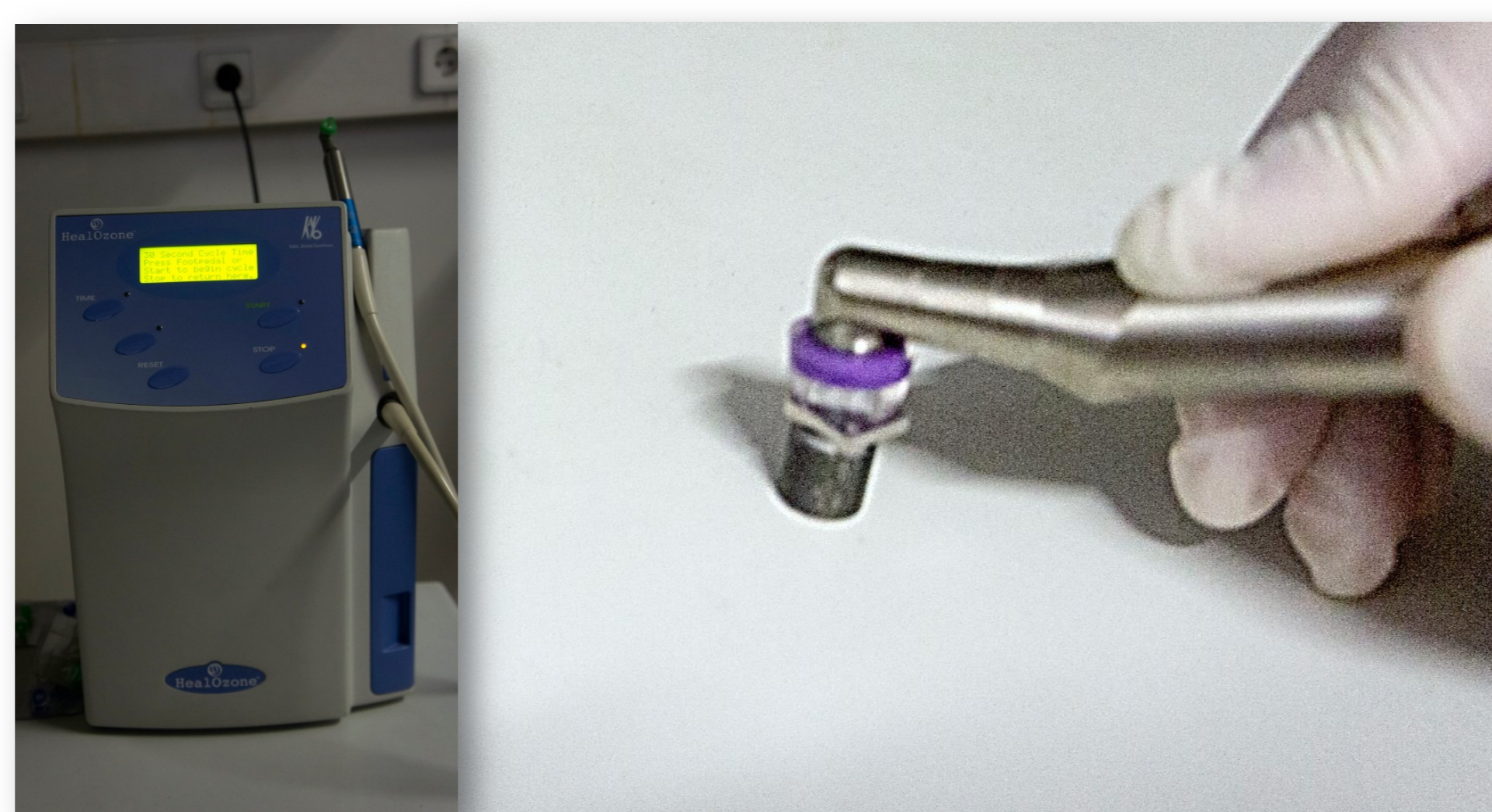


Figura 2 - Equipamento HaelOzone® (KavoDental GmbH, Biberach, Germany) e exemplificação da sua aplicação em disco de Titânio.

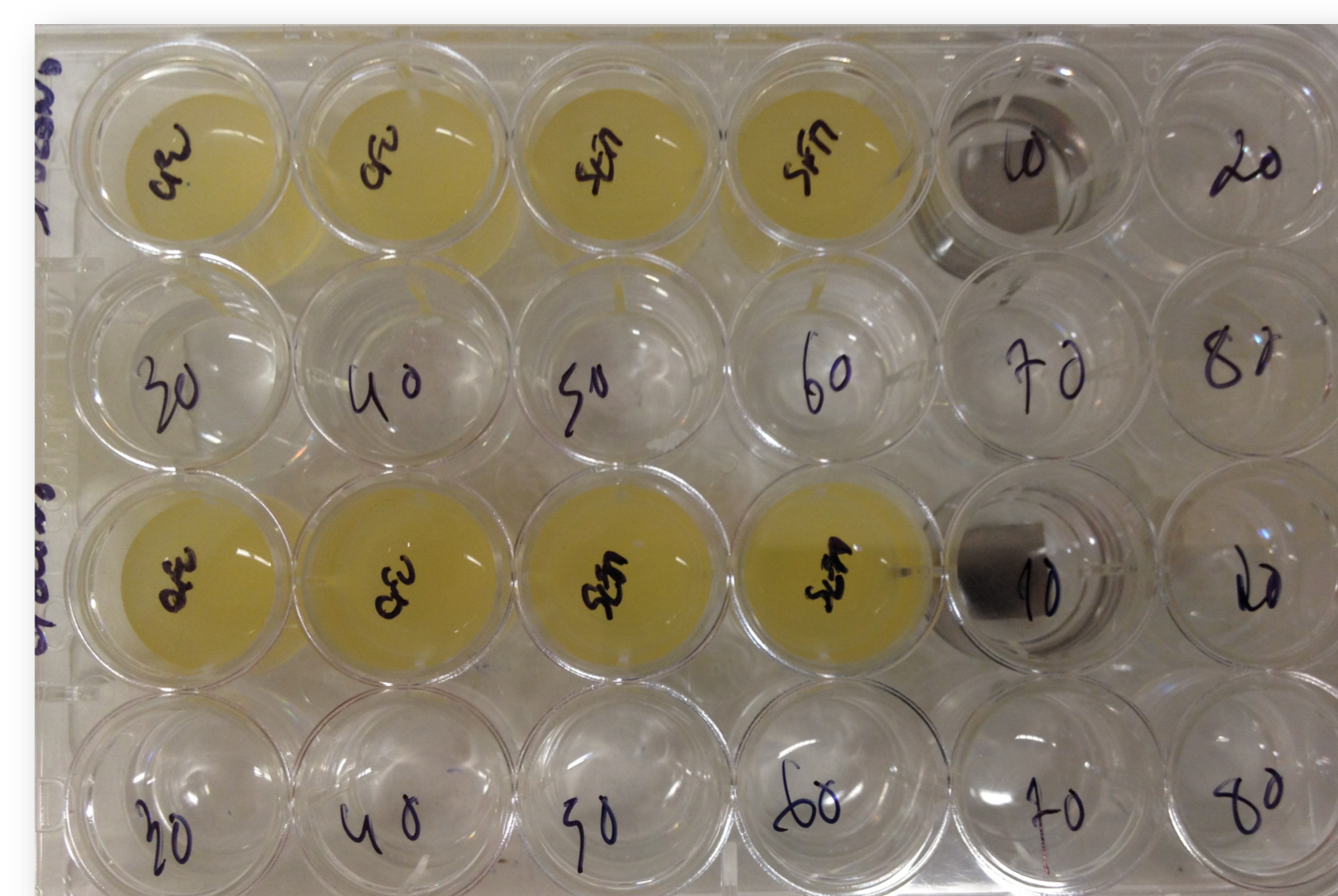


Figura 3 - Microplaca de 24 poços representativa da metodologia utilizada na avaliação do efeito de Ozono sobre biofilmes bacterianos.

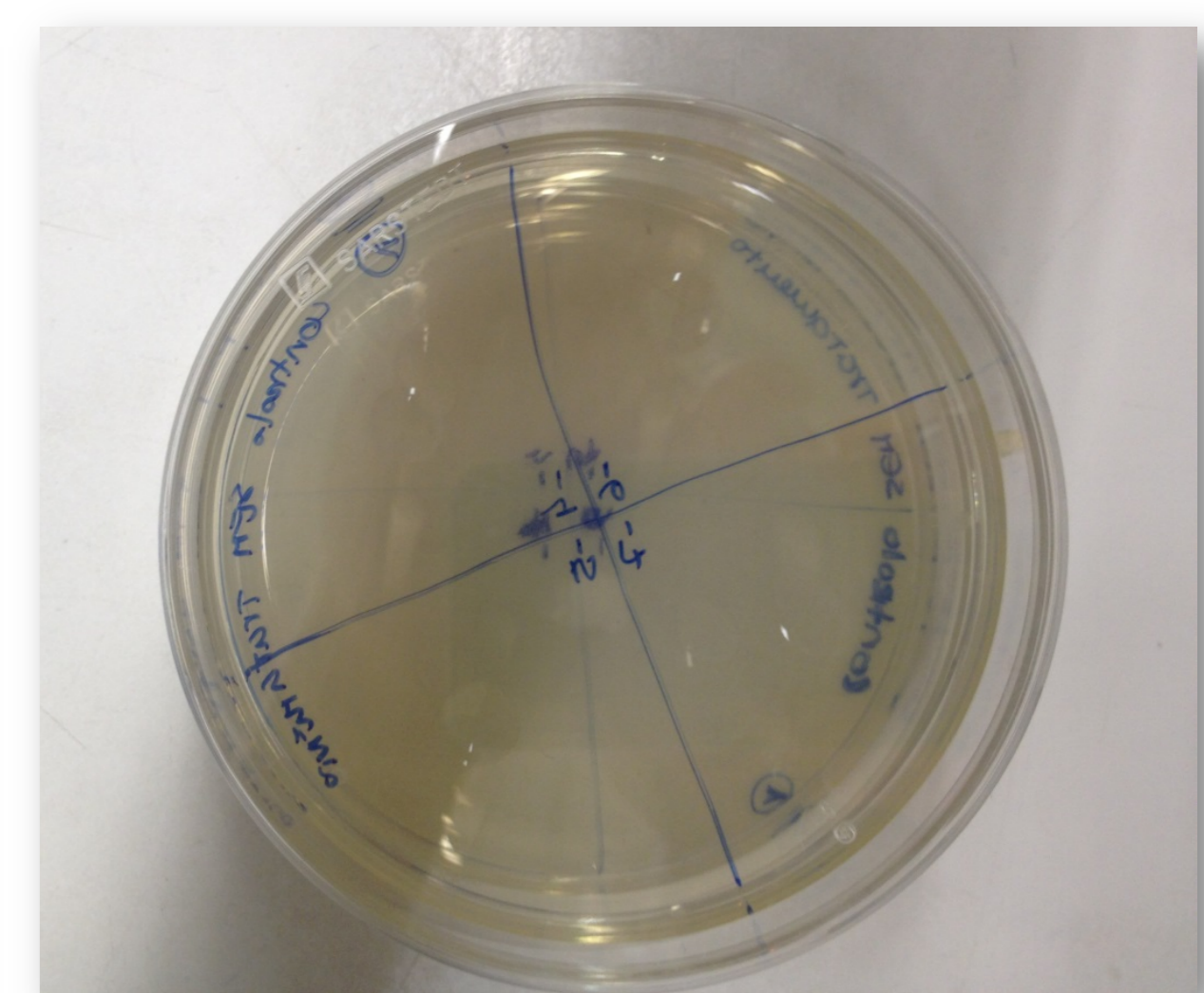


Figura 4 - Preparação dos discos de Titânio (CT2M)

## RESULTADOS

Verificou-se que houve uma inibição de crescimento do *S.aureus* de 31,4% após a aplicação do Ozono. O tratamento da superfície do disco de Titânio conduziu a uma redução de crescimento bacteriano de cerca de 2.5 ciclos logarítmicos (Figuras 5 e 6). O teste de *Mann Whitney* revelou a existência de uma diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos (com e sem aplicação de Ozono) (p=0,0286).

% Inibição	
	32,4
	31,5
	31,3
	30,3
<b>Média</b>	<b>31,4</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>0,86</b>

Figura 5 - Resultados relativos à avaliação de inibição de crescimento bacteriano

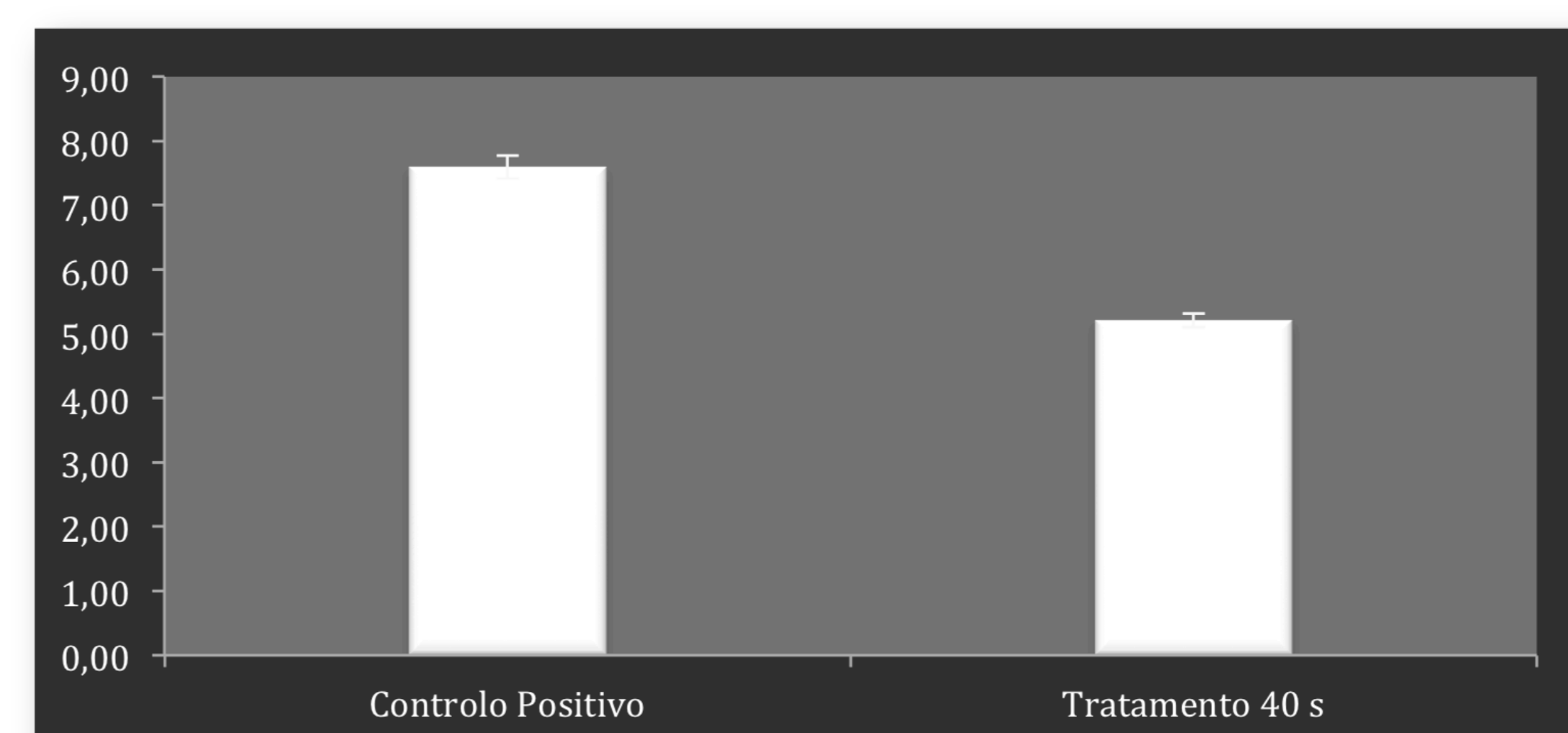


Figura 6 - Contagem de microorganismos viáveis (log UFC/ml) de *Staphylococcus aureus* nos dois grupos de estudo.

## CONCLUSÃO

A aplicação do Ozono em discos de titânio numa superfície revestida com elevado número de *S. aureus* (1,0x10<sup>8</sup> ufc/ml) conduziu a um efeito bacteriostático, demonstrando assim a potencial relevância deste equipamento na peri-implantite. São necessários mais estudos *in vivo*, com diferentes superfícies de implantes, para se testar a eficácia do Ozono no tratamento da patologia peri-implantar.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 - Vaz P, Gallas MM, Braga AC, Sampaio-Fernandes JC, Felino A, Tavares P. IL1 gene polymorphisms and unsuccessful dental implants. Clin Oral Implants Res 2012;23(12):1404-13
- 2 - Heitz-Mayfield LJ. Diagnosis and management of peri-implant diseases. Aust Dent J 2008;53 Suppl 1:S43-8.
- 3 - Khammissa RA, Feller L, Meyerov R, Lemmer J. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: bacterial infection. SADJ 2012;67(2):70, 72-4
- 4 - Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. Int Endod J 2009;42(1):3-13
- 5 - Miles A, Misra S, Irwin J. The estimation of the bactericidal power of the blood. The Journal of Hygiene 1938;38(6):732-49